

Befruchtung und Autogamie bei *Rubus caesius*

Inauguraldissertation
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
Dieter Gerlach
aus Magdeburg

VEB Georg Thieme, Leipzig

1 9 6 5

Als Dissertation genehmigt
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 19. 5. 1965

Dekan: Universitätsprofessor Dr. Th. Ernst

Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. E. Haustein

Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. W. Haupt

Sonderdruck aus: Biologisches Zentralblatt, Band 84, Heft 5

Sonderdruck aus
„BIOLOGISCHES ZENTRALBLATT“

Band 84 (1965), Heft 5

VEB GEORG THIEME, LEIPZIG

Befruchtung und Autogamie bei *Rubus caesius*

Von D. GERLACH





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548813_0081

Befruchtung und Autogamie bei *Rubus caesius*

Von D. GERLACH

Mit 15 Abbildungen

Einleitung

Wenn *Rubus caesius* mit dem Pollen verschiedener anderer *Rubus*-Arten bestäubt wurde, erhielt LIDFORSS (1914) stets Nachkommen, die ausschließlich mütterliche Merkmale trugen. Daraus war zu folgern, daß sich die genannte Art lediglich auf parthenogenetischem Wege fortpflanzt. GUSTAFSSON (1942) hielt es für wahrscheinlich, daß die Embryosäcke apospor entstehen und daß die Ausbildung der Embryonen von einer Pseudogamie abhängig ist. Bei *Rubus caesius* würde demnach die Fortpflanzung in Form einer zytophasigen Parthenogenese im Sinne WINKLERS (1934) ablaufen.

Im Gegensatz dazu stellte CHRISTEN (1950) in den Fruchtknoten von Exemplaren, die aus der Schweiz stammten, viel häufiger reduzierte als unreduzierte Embryosäcke fest. DOWRICK (1961) untersuchte die Embryosackentwicklung an Material, das in England, Finnland und Polen gesammelt worden war. Er fand dabei überhaupt nie Aposporie, sondern immer nur Anzeichen für einen normalen Meioseablauf.

Demnach wären die Eikerne von *Rubus caesius*, zumindest in den meisten Fällen, haploid. Trotz Parthenogenese sind die Kerne der Embryonen aber gewöhnlich nicht haploid. Folglich muß ein Mechanismus vorhanden sein, der für die Aufregulierung des Chromosomensatzes entweder im Eikern oder später in einem Kern einer Embryozelle sorgt. DOWRICK gelang es nicht, diesen auf cytologischem Wege zu finden. Er konnte nur Vermutungen darüber äußern, und zwar hielt er eine Restitution bei der ersten Teilung des Eikernes für wahrscheinlicher als eine Kernverschmelzung bei der Embryosackentwicklung.

Wenn sich nun die Eikerne als haploid erwiesen hatten, dann war zu fragen, ob nicht in einigen Fällen auch eine normale Befruchtung vorkommt. DOWRICK wies Befruchtung auf züchterischem Wege bei *Rubus laciniatus* nach, einer Art, die wie *Rubus caesius* im diploiden Zustande 28 Chromosomen besitzt.

In der vorliegenden Arbeit soll nun auf Grund histologischer Untersuchungen einmal geklärt werden, ob bei *Rubus caesius* eine Befruchtung vorkommt. Zum anderen soll der Mechanismus untersucht werden, der für die Verdoppelung der haploiden Chromosomenzahl in der Eizelle bei Parthenogenese sorgt.

Material und Methode

Die Untersuchungen beschränkten sich auf die Subspecies *aquaticus* (ADE, 1957, S. 178), um das Material, welches verschiedenen Standorten entstammt, möglichst einheitlich zu halten.

Fixiert wurden frei bestäubte Stempel solcher Pflanzen, die von anderen *Rubus*-Arten isoliert wuchsen. Somit war eine Bestäubung mit artfremdem Pollen wohl ausgeschlossen. Als Fixierlösungen bewährten sich besonders die folgenden: Alkohol-Eisessig 3:1, Bouin und die Randolphsche Modifikation des Nawaschinschen Gemisches (CONN u. a., 1960). Nach der Entwässerung in Alkoholstufen wurden die Objekte über Terpeneol (ZACH, 1954), Chloroform oder tert. Butanol (JOHANSEN, 1940) in Paraffin eingebettet und mit dem Rotationsmikrotom 10–25 μ dick geschnitten. Die günstigsten Färbungen waren: Safranin – Lichtgrün (STRASBURGER-KOERNICKE, 1923, S. 816), Hämatoxylin nach Heidenhain (CONN u. a., 1960, S. 210 ff.) und Feulgen (DARLINGTON – LA COUR, 1963). Die Zeichnungen wurden mit Hilfe des Treppenbergschen Zeichentubus (Wild) unter Verwendung des Fluorit-Objektives 100 angefertigt.

Herrn Prof. Dr. HAUSTEIN danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für die stete Unterstützung bei ihrer Durchführung. Ebenfalls danke ich Herrn Prof. Dr. HAUPT für die Überlassung eines Arbeitsplatzes.

A. Sexuelle Fortpflanzung

Verhalten der Spermazellen in der Synergide und im Embryosack

Der Pollenschlauch gelangt durch die Mikropyle zum Nuzellus, wo er zwischen den parenchymatischen Zellen in fast gerader Linie weiterwächst, bis er eine der beiden Synergiden erreicht hat. Die Synergiden besitzen je eine große, in der chalazalen Zellhälfte liegende Vakuole sowie einen cytoplasmareichen Bezirk im entgegengesetzten Teil der Zelle. Am äußersten mikropylaren Ende ist die Zellwand mit dem Fadenapparat versehen.

Im Bereiche dieses Fadenapparates dringt der Pollenschlauch in eine der beiden Synergiden ein. Dadurch erhält die Zellwand eine fast kreisrunde Öffnung, die eine Zeitlang erhalten bleibt. Wenn sich der Pollenschlauchinhalt in die Synergide ergossen hat, wird in den Präparaten der ganze Zellinhalt homogen mit Safranin angefärbt. Der Kern und die große Vakuole sind dann nicht mehr nachweisbar.

Das Cytoplasma der beiden Spermazellen ist in dem dichten Medium, das sie umgibt, nur selten deutlich wahrnehmbar. Im Gegensatz zu dem anukleal reagierenden Synergidenkern färben sich die Spermakerne nach Feulgen tiefrot. Sie sind anfangs von mehr länglicher Gestalt, werden aber bald kürzer und dicker, bis sie schließlich einen fast rundlichen Umfang angenommen haben. Die Geschwindigkeit dieser Gestaltänderung ist manchmal bei beiden Kernen verschieden. So kann es vorkommen, daß der eine schon die runde Endform besitzt, während der andere noch länglich ist.

Neben den beiden feulgenpositiv reagierenden Spermakernen tritt in der vom Pollenschlauchinhalt erfüllten Synergide ab und zu ein weiteres Gebilde auf, das sich nach Feulgen ebenfalls rot färbt und eine fadenförmige Gestalt besitzt. Es könnte sich dabei um den Rest des vegetativen Kernes handeln. Allerdings soll dieser in den meisten Fällen arm an DNS sein (ROWLANDS, 1954).

Die Synergide platzt stets am chalazalen Ende. Gewöhnlich geschieht dies erst dann, wenn beide Spermakerne die rundliche Endform angenommen haben. Der Inhalt der platzenden Synergide ergießt sich auf die Eizelle und bildet dort eine stark färbbare, schollige Masse. Zwischen den Schollen heben sich im allgemeinen recht deutlich die beiden, oft dicht nebeneinanderliegenden Spermazellen ab (Abb. 1). Ihr Cytoplasma ist jetzt als ein relativ breiter, homogener Saum zu sehen, der die Kerne allseitig umgibt. Nach außen werden die Spermazellen von einer deutlichen Membran begrenzt, wie sie schon von FUCHS (1936) bei *Elaeagnus angustifolius* festgestellt worden war.

Das Chromatin der eben aus der Synergide ausgetretenen Spermazellen reagiert stark feulgenpositiv und ist dermaßen kondensiert, daß es sich mit Safranin praktisch homogen anfärbt. Irgendeine feinere Struktur konnte in ihm nicht wahrgenommen werden. Vielleicht ist diese Strukturlosigkeit auch durch eine ungenügende Fixierung bedingt, denn schon STEFFEN (1951) weist auf die große Fixierungslabilität des männlichen Chromatins bei *Impatiens* hin.



Abb. 1. Zwei Spermazellen auf der Eizelle zwischen dem Inhalt der geplatzten Synergide. Spermakerne durch Safranin stark gefärbt, Spermaplasma homogen. Eikern nicht sichtbar

Ein Nukleolus fehlt den Kernen der Spermazellen jetzt ebenso wie vorher in der Synergide. Das Fehlen von Nukleolen in den männlichen Sexualkernen scheint nach TISCHLER (1934, S. 139) eine weit verbreitete Erscheinung zu sein.

Die Spermazellen und ihre Kerne machen, wenn sie frei im Embryosack liegen, im allgemeinen keine Veränderungen mehr mit, wie diese z. B. von GERASSIMOVA (1933) an *Crepis* oder von STEFFEN (1951) an *Impatiens* beobachtet worden waren. Die Spermakerne behalten ihre typisch rundliche Form bei, so, wie sie schon von einigen anderen Angiospermen bekannt ist (Übersicht z. B. bei SCHNARF, 1929, S. 305). Nur manchmal können die beiden Kerne einen leicht gelappten Umfang annehmen.

Im Gegensatz zu anderen Objekten (Übersicht z. B. bei MAHESHWARI, 1950, S. 195f.) lassen die beiden männlichen Sexualzellen auch keinerlei Unterschiede erkennen, aus denen ersichtlich wäre, welcher der beiden Kerne mit dem Eikern und welcher mit dem sekundären Embryosackkern verschmilzt.

Wenn die Synergide schon geplatzt ist, kann sie trotzdem manchmal noch den oben erwähnten feulgenpositiven Faden enthalten. Dieser trat nie frei im Embryosack auf.

Eindringen der Spermazelle in die Eizelle und Befruchtung

Auf der Eizelle liegende Spermazellen wurden nur verhältnismäßig selten aufgefunden. Daraus kann der Schluß gezogen werden, daß ihr dortiger Aufenthalt nur von kurzer Dauer ist. Somit dringt offensichtlich bald nach dem Platzen der Synergide eine der beiden Spermazellen in die Eizelle ein. Dabei hat man den Eindruck, als löse sich vorübergehend die Membran der Eizelle an der Stelle auf, an der die männliche Sexualzelle eindringt. Von einer solchen reversiblen Auflösung der Eizellmembran bei der Befruchtung wurde schon in der Literatur berichtet, jedoch hält STEFFEN (1951) die betreffenden Abbildungen nicht für überzeugend.

Beim Eindringen in die Eizelle ist das Spermaplasma noch deutlich zu sehen und von einer scharfen Membran umgeben (Abb. 2). Das weitere Schicksal dieses Cytoplasmas konnte in der Eizelle allerdings nicht verfolgt werden. Es ist nicht mehr am Spermakern nachweisbar, wenn sich dieser dem Eikern angelegt hat.

Das Eindringen männlichen Cytoplasmas in die Eizelle wurde mit absoluter Sicherheit festgestellt. STEFFEN (1951) und RICHTER-LANDMANN (1959) wiesen das

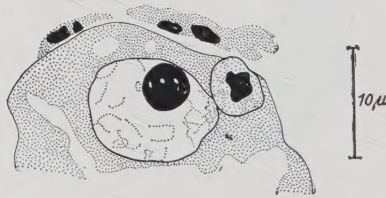


Abb. 2. In die Eizelle eindringende Spermazelle. Membran der Spermazelle deutlich sichtbar. Spermakern noch sehr stark färbbar. Auf der Eizelle Reste des Synergideninhaltes

gleiche schon für *Impatiens* ebenfalls auf histologischem Wege nach. Außerdem liegen eine ganze Reihe genetischer Untersuchungen vor, die gleichfalls für eine Übertragung männlichen Cytoplasmas bei der Befruchtung sprechen (Übersicht bei HAGEMANN, 1964, S. 139).

Nachdem die Spermazelle in die Eizelle eingedrungen ist, ändert sich die Struktur des Eiplasmas und es tritt eine große Anzahl von Vakuolen auf (Abb. 3c, 12).

Der Kern der eben in die Eizelle eingedrungenen Spermazelle ist zunächst noch deutlich feulgenpositiv und auch mit den üblichen Kernfarbstoffen stark anfärbbar (Abb. 2). Das Chromatin ist dabei anfänglich noch dermaßen kondensiert, daß die Kernmembran kaum nachweisbar ist. Diese gute Färbbarkeit verliert der männliche Sexualkern aber bald nachdem er sich dem Eikern angelegt hat (Abb. 3a und b). Sein Chromatin ist schließlich nach Hämatoxylinfärbung nur noch in Form einiger weniger Punkte und Linien zu erkennen (Abb. 3c). Auf diesem Stadium fällt die Nuklealreaktion nur noch sehr schwach aus. Mit der Abnahme der Färbbarkeit geht eine geringe Volumenzunahme des Spermakernes einher.

Der Eikern besitzt einen großen Nukleolus und reagiert im fertig ausgebildeten Embryosack völlig anukleal. Dies ist nach VAZART (1958, S.141f.) eine bei Angiospermen allgemein auftretende Erscheinung.

Wenn der dem Eikern anliegende Spermakern seine starke Färbbarkeit verloren hat, kann man deutlich seine Membran sehen (Abb.3c). Überhaupt ist er auf diesem Stadium bei oberflächlicher Betrachtung leicht mit einer der kleinen Vakuolen zu verwechseln, welche den Eikern umgeben. Bei genauer Beobachtung erkennt man in ihm aber immer einige stärker färbare Chromatinbestandteile, die in den Vakuolen nie vorkommen. Ein Nukleolus ist auch auf diesem Stadium noch nicht vorhanden, was auch FUCHS (1938) bei *Daphne laureola* feststellte.

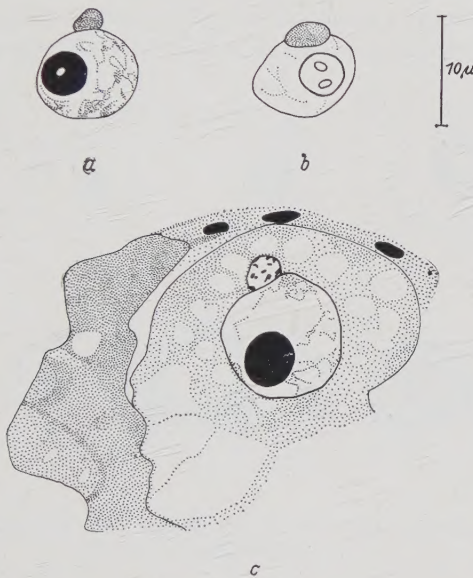


Abb. 3. Den Eikernen anliegende Spermakerne. a) Spermakern noch recht stark färbbar. b) Nuklealreaktion am Spermakern schon schwach. c) Nur noch sehr schwach färbbarer Spermakern

Ein Hineindrängen des männlichen Kernes in den Eikern, wie dies bei anderen Pflanzen beobachtet worden war (KÜSTER, 1951, S.265), konnte bei *Rubus caesius* nicht gesehen werden. Der Spermakern schiebt sich lediglich so dicht an den Eikern heran, daß die beiden trennenden Kernmembranen eine fast ebene Berührungsfläche bilden (Abb.3c).

Diese trennenden Kernmembranen scheinen schließlich aufgelöst zu werden. Allerdings war dieser Vorgang selbst nicht unmittelbar in den Präparaten zu verfolgen. Offensichtlich läuft er sehr schnell ab. Außerdem liegen Ei- und Spermakern nur selten so günstig im Gesichtsfeld, daß die trennenden Membranen von der Seite gesehen werden können. Für eine exakte Beobachtung der Membranauflösung kommt aber nur diese Stellung in Frage. Darum ist von vornherein die

Wahrscheinlichkeit sehr gering, daß eine Phase dieses Vorganges beobachtet werden kann. Nur einige Male trat das Endstadium auf. Hier saß der männliche Kern in Form einer stärker färbbaren Kappe dem Eikern auf. Zwischen den beiden Kernteilen war eine trennende Membran nicht mehr vorhanden (Abb. 4a). TISCHLER (1951) meint, eine derartige Auflösung der trennenden Kernmembranen sei eine allgemeine Erscheinung bei der Befruchtung. Allerdings wird dieser Vorgang nur von wenigen Autoren ausdrücklich hervorgehoben, so z.B. von HOARE (1934) bei *Scilla*, COOPER (1949) bei *Oxybaphus* und MODILEVSKY (1963, S. 234) bei *Neottia*. In jüngster Zeit gelang es JENSEN (1964), das Verschwinden der trennenden Kernmembranen bei der Kernverschmelzung auf Grund elektronenmikroskopischer Untersuchungen bei *Gossypium* nachzuweisen.

Trotz der Auflösung der trennenden Kernmembranen scheint zunächst noch keine innige Verschmelzung der beiden Kernteile zu erfolgen. Vielmehr hebt

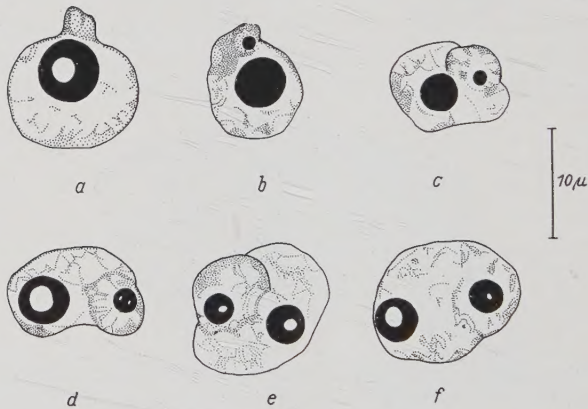


Abb. 4. a bis f: Stadien der Fusion von Ei- und Spermakern. Mikropyle stets nach unten orientiert

sich der kleinere, männliche Kernteil noch längere Zeit in Form einer Beule ab, die häufig etwas mehr Chromatin enthält als der restliche Kern (Abb. 4 b bis e). Diese Trennung in männlichen und weiblichen Teil bleibt auch dann bestehen, wenn sich der Zygotenkern in der Folgezeit immer mehr aufbläht (Abb. 4e).

Bald nach dem Auflösen der trennenden Kernmembranen bildet sich im männlichen Teil des Zygotenkernes ein Nukleolus aus, der rasch größer wird (Abb. 4 b bis e). In seltenen Fällen können auch im weiblichen Teil noch zusätzliche Nukleoli auftreten, die aber immer nur sehr klein sind.

Bei dem Aufblähen wird die chromatische Substanz im Zygotenkern nicht vermehrt. Die Grenze zwischen dem männlichen und weiblichen Teil kann entweder völlig verschwinden oder auch bestehen bleiben. In diesem letzteren Fall macht sie sich dann als flache, auf der Kernoberfläche verlaufende Rinne bemerkbar (Abb. 4f).

Der männliche Nukleolus ist im allgemeinen deutlich kleiner als der weibliche, kann aber hin und wieder fast die Größe des letzteren erreichen (Abb. 4f), wobei

der Zygotenkern seine typische Form beibehält. Beide Nukleoli können nebeneinander bestehen bleiben (Abb. 4f) oder miteinander verschmelzen.

Nicht immer behält der Zygotenkern seine typische Form, sondern er kann manchmal auch kleiner und chromatinreicher werden.

Befruchtung des Polkernes

Die beiden rundlichen Polkerne befinden sich zunächst etwa in der Mitte des Embryosackes. Dort schieben sie sich immer mehr zusammen, wobei zwischen beiden schließlich eine mehr oder weniger ebene Berührungsfläche entsteht (Abb. 5a). Diese kann in einem beliebigen Winkel zur Embryosacklängsachse liegen. Die so gepaarten Kerne wandern dann in die mikropylare Hälfte des Embryosackes, wo sie in unmittelbare Nähe des Eiapparates zu liegen kommen. Im allgemeinen ist dieser Vorgang bereits abgeschlossen, wenn ein Pollenschlauch die Synergide erreicht hat.

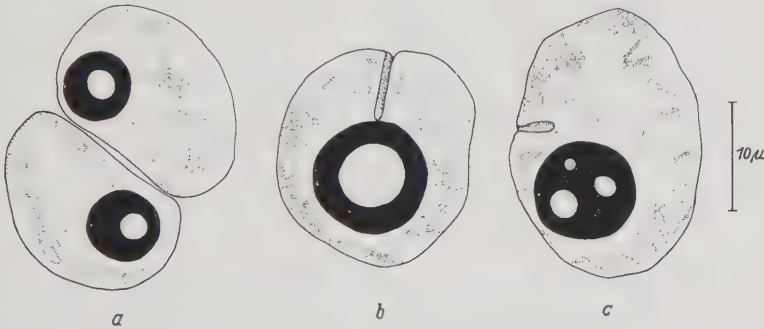


Abb. 5. Fusion der Polkerne

Die beiden Polkerne verschmelzen nun nicht miteinander, sondern im allgemeinen wird erst einer von ihnen durch einen Spermakern befruchtet. Ein Frühstadium der Fusion von Polkern mit einem der beiden Spermakerne konnte aber nicht gefunden werden. Der Grund dafür dürfte vermutlich in der Geschwindigkeit der Verschmelzung zu suchen sein. Diese ist offensichtlich beim Polkern größer als in der Eizelle. Auch bei anderen Pflanzen ist eine derartig beschleunigte Befruchtung der Polkerne festgestellt worden, so z. B. bei *Crepis* (GERASIMOVA, 1933), *Scilla* (HOARE, 1934) und *Impatiens* (STEFFEN, 1951). Trotzdem ist ziemlich sicher, daß meistens ein unverschmolzener Polkern befruchtet wird, denn während der Polkernfusion wurde nie eine frei im Embryosack liegende Spermazelle gefunden. Wie weiter unten aber noch gezeigt werden wird, können auch unbefruchtete Polkerne miteinander verschmelzen, was zur Entstehung eines diploiden Endospermes führt.

Die Polkerne können gleich in der Nähe des Eiapparates miteinander verschmelzen. Meistens wandern sie aber im gepaarten Zustande vorher noch ein

kleines Stück zurück gegen die Embryosackmitte zu. Dann erfolgt erst dort ihre Fusion. Diese läuft in der Weise ab, daß die beiden trennenden Kernmembranen von der einen Seite her fortschreitend zur anderen aufgelöst werden (Abb. 5b und c). Den gleichen Verschmelzungsmodus hatte schon STEFFEN (1951) bei *Impatiens* festgestellt. Die Vereinigung der beiden Nukleoli kann manchmal schon dann erfolgen, wenn die Kernfusion noch nicht ganz abgeschlossen ist (Abb. 5b und c). COOPER (1949) fand die gleiche Erscheinung bei *Oxybaphus*.

Am befruchteten sekundären Embryosackkern hebt sich das männliche Chromatin nur selten in Form einer nukleolushaltigen, etwas stärker färbbaren Beule ab (Abb. 6). Wenn aber eine solche einmal vorhanden ist, dann liegt sie meistens auf der mikropylaren Hälfte des Kernes.

In dem großen Nukleolus des sekundären Embryosackkernes treten häufig große Vakuolen auf (Abb. 6), die sich manchmal gegen das Karyoplasma zu öffnen. Die Nukleolen erhalten dadurch ein napfartiges Aussehen, wie das

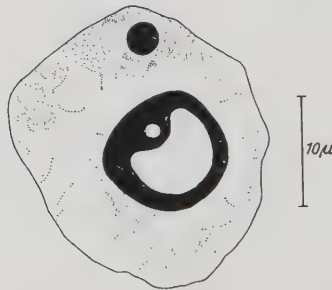


Abb. 6. Befruchteter sekundärer Embryosackkern

bereits STEFFEN (1951) bei *Impatiens* gesehen hatte. Die Bildung großer Vakuolen kann man auch in den Nukleolen der Polkerne beobachten (Abb. 5).

Der befruchtete sekundäre Embryosackkern reagiert ebenso wie vorher die beiden Polkerne völlig anukleal.

Bei der ersten Teilung ist die Spindel des primären Endospermkernes immer parallel zur Längsachse des Embryosackes gerichtet. Auffallend ist, daß die Chromosomen bei dieser Mitose deutlich größer sind als solche Chromosomen, die bei den Kernteilungen im umliegenden Nuzellusgewebe auftreten. Dafür färben sich erstere mit der Feulgenreaktion nur sehr schwach an, während letztere nach Anwendung des gleichen Verfahrens tiefrot erscheinen.

Von den beiden so entstehenden Endospermkernen wandert der eine an das chalazale und der andere an das mikropylare Ende des Embryosackes. Im Gegensatz zum sekundären Embryosackkern färben sich die Endospermkerne nach Feulgen leicht rötlich. Die Intensität der Reaktion steigt um so stärker an, je mehr Kerne im Endosperm vorhanden sind.

Der beim Platzen der Synergide zusammen mit den Spermazellen in den Embryosack gelangte Pollenschlauchinhalt scheint verhältnismäßig rasch resorbiert zu werden. Meistens ist er nur noch in Spuren oder überhaupt nicht mehr auffindbar, wenn das Endosperm zweikernig geworden ist.

Eindringen eines überzähligen Pollenschlauches und Dispermie

Gelegentlich kann auch in die zweite, noch intakte Synergide ein Pollenschlauch eindringen. Derartige wird in der Literatur mehrfach für andere Pflanzen beschrieben, z. B. für *Oenothera* (ISHIKAWA, 1918), *Crepis* (GERASSIMOVA, 1933) und *Zea mays* (RAICU und POPOVICI, 1964).

Gewöhnlich kann aber die zweite von Pollenschlauchinhalt erfüllte Synergide nicht mehr platzen. Häufig sind dann in solchen Synergiden die Kerne der zwei Spermazellen nachweisbar, die sich auf den verschiedensten Umwandlungsstadien befinden können. WYLIE (1941) berichtet von *Vallisneria*, daß hier die

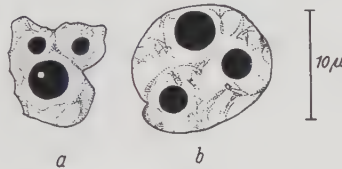


Abb. 7. Dispermie

zweite von einem Pollenschlauch belegte Synergide in der Regel ebenfalls nicht zu platzen vermag. Dies gilt für *Rubus caesius* aber nicht ausnahmslos. Denn in einigen wenigen Fällen kam es doch vor, daß zwei Synergiden ihren Inhalt in den Embryosack ergossen hatten. Überzählige Spermazellen konnten hin und wieder im Embryosack auch nachgewiesen werden. Einmal traten dabei zwei Spermakerne auf, die sich noch in einem gemeinsamen biskuitförmigen Cytoplasma befanden. In diesem Falle hatte sich also die generative Zelle noch nicht geteilt. Vom übrigen Synergideninhalt war diese zweikernige Zelle durch einen deutlichen Spalt abgegrenzt. FINN (1928) hatte eine solche Spaltbildung um die Spermazellen schon im Pollenschlauch von *Vinca* festgestellt; er war überzeugt, daß es sich dabei um ein Fixierungsartefakt handelt.

In seltenen Fällen kann nun ein Eikern von zwei Spermakernen befruchtet werden. Solche triploide Zygotenkerne enthalten dann einen großen und zwei kleinere, gleichgroße Nukleolen, die sich in mehr oder weniger deutlichen Ausbeulungen des Kernes befinden (Abb. 7). Allerdings wurde nie das Frühstadium der dispermen Befruchtung, nämlich das Anlegen zweier Spermakerne an den Eikern, beobachtet. Da man aber schon bei normaler Befruchtung die beiden noch getrennten Sexualkerne nur selten nebeneinanderliegend findet, ist es wenig wahrscheinlich, daß dieses Stadium bei den außerordentlich wenigen Fällen von Dispermie einmal gesehen wird.

Einmal trat ein solcher triploider Zygotenkern auf, als sich im Embryosack noch zwei weitere Spermazellen befanden. Diese waren von derartig einheitlichem Synergideninhalt umgeben und lagen so dicht zusammen, daß man annehmen muß, sie entstammen beide dem gleichen Pollenschlauch. Demnach sind in diesem Fall die männlichen Geschlechtszellen ein und desselben Pollenschlauches in die Eizelle eingedrungen.

Dispermie ist bis jetzt bei Angiospermen nur verhältnismäßig selten beschrieben worden (z. B. von ISHIKAWA, 1918, bei *Oenothera*). Damit könnte aber das Auftreten wenigstens eines Teiles triploider Embryonen erklärt werden, wie sie DOWRICK (1961) bei *Rubus laciniatus* fand.

B. Parthenogenetische Fortpflanzung

Autogamie

Bei *Rubus caesius* tritt also wenigstens in manchen Fällen normale Befruchtung auf. Aus der Häufigkeit, in der die verschiedensten Stadien der Kernfusion gefunden werden, kann man schließen, daß es sich dabei um einen durchaus normalen Vorgang, also um keine Ausnahmeerscheinung handelt.

Andererseits ist bekannt, daß sich *Rubus caesius* auch parthenogenetisch, also ohne Befruchtung fortpflanzt (z. B. LIDFORSS, 1914; GUSTAFSSON, 1942). Dies konnte auch am vorliegenden Material festgestellt werden.

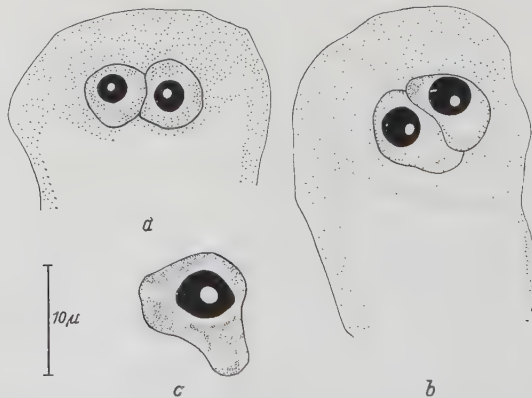


Abb. 8. a bis b) Kernfusion bei Autogamie. c) Durch Autogamie entstandener Fusionskern

Wenn das Endosperm – wie im folgenden gezeigt werden wird ohne Befruchtung – etwa vier- bis achtkernig geworden ist, kann es vorkommen, daß sich in der Eizelle kein chromatinarmer Zygotenkern befindet wie nach einer normalen Befruchtung, sondern an seiner Stelle zwei gleichgroße, chromatinreiche Kerne nebeneinanderliegen (Abb. 8a). Sie reagieren feulgennegativ und ihre Nukleolen sind ungefähr gleich groß. Die Verbindungsachse der beiden Kerne ist stets mehr

oder weniger senkrecht zur Längsachse der Eizelle orientiert. Manchmal zeigen die nach Feulgen gefärbten Präparate auf diesem Stadium in der Synergide zwei Spermakerne, die sich auf den verschiedensten Umwandlungsstadien befinden. Die andere Synergide kann dabei noch unversehrt sein oder ebenfalls zwei Spermakerne beinhalten. In diesen Fällen sind also die Spermazellen nicht in den Embryosack gelangt und konnten darum auch nicht in die Eizelle eindringen. Folglich kann es sich bei dem oben geschilderten Stadium um keinen besonders gearteten Fall einer Befruchtung handeln.

Man kann sich die Erscheinung nur so erklären, daß sich der haploide Eikern in der Weise geteilt hat, daß seine Spindel senkrecht zur Längsachse der Eizelle orientiert war. Der Kernteilung folgt nun keine Zellteilung, denn zwischen den beiden Kernen war nie eine Zellwand festzustellen. In der Folge nähern sich die beiden Kerne immer mehr, bis sie schließlich miteinander eine fast ebene Berührungsfläche bilden (Abb. 8b). Gleichzeitig nehmen sie etwas an Volumen zu, wobei ihre Färbbarkeit um ein geringes abnimmt. Dadurch werden jetzt die zwischen beiden Kernen befindlichen trennenden Membranen deutlicher sichtbar. Diese waren vorher infolge des dicht gefärbten Chromatins meistens nur sehr schwer nachweisbar. Diese Kernmembranen werden anschließend vermutlich aufgelöst. Die beiden Nukleolen verschmelzen im allgemeinen sofort nach der Kernfusion miteinander.

Das Resultat dieses Vorganges ist ein großer, unregelmäßig geformter, chromatinreicher, diploider Kern (Abb. 8c). Manchmal ist er leicht von dem chromatinarmen Zygotenkern zu unterscheiden. In anderen Fällen besteht aber eine solche Unterscheidungsmöglichkeit nicht, weil auch der auf amphimiktischem Wege entstandene Zygotenkern chromatinreich werden kann. Dazu kommt, daß nicht auf allen Präparaten genau entschieden werden kann, ob eine Synergide geplatzt ist oder nicht.

Auffallend ist, daß in dem Fusionskern, der sich auf automiktischem Wege gebildet hat, niemals zwei verschiedene Kernabschnitte zu erkennen waren, wie dies im Zygotenkern wenigstens anfänglich immer der Fall ist.

Die Vorgänge der Kernteilung, die in der Eizelle zu den zwei gleichgroßen Tochterkernen führen, konnten nicht mit Sicherheit verfolgt werden. Manchmal wurden zwar auffallend schräg gestellte Teilungsspindeln beobachtet, aber eine annähernde Bestimmung der Chromosomenzahl war nie möglich.

Der gleiche Vorgang wie bei der Autogamie in der Eizelle tritt bei *Rubus caesius* auch in den Zellen des Antherentapetums auf. Demnach ist dieser Mechanismus der Chromosomenverdopplung für diese Pflanze keineswegs neu und ungewöhnlich. Zu bemerken ist nur, daß die Kerne im Antherentapetum im Gegensatz zu den Eikernen anfänglich diploid sind. Sie teilen sich zunächst in Form einer ganz normalen Mitose (Abb. 9a bis d), welche in allen Einzelheiten verfolgt werden konnte. Daraufhin werden zwei gleichgroße Kerne ausgebildet, die nebeneinander in der gleichen Zelle liegen bleiben, weil der Kernteilung keine Zellteilung folgt (Abb. 9 e bis g). Anschließend rücken sie immer mehr zusammen, bis sie eine mehr oder weniger ebene Berührungsfläche bilden. Schließlich werden die trennenden Kernmembranen schrittweise aufgelöst (Abb. 11 d).

Die einzelnen Stadien der Kernteilung und -verschmelzung sind deshalb so gut im Antherentapetum zu verfolgen, weil hier allein schon ein Schnitt durch eine Anthere zahlreiche Zellen liefert, in denen die verschiedensten Phasen dieser Vorgänge festgehalten sind. Eizellen liegen dagegen in den Embryosäcken

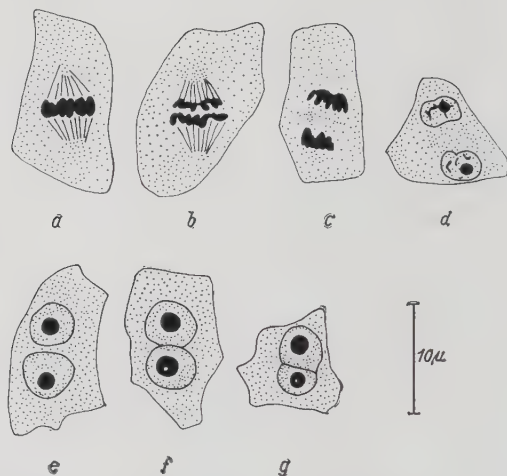


Abb. 9. Kernteilung und -verschmelzung im Antherentapetum. Kerne anfangs diploid, nach der Verschmelzung tetraploid

immer nur in der Einzahl vor und überdies wird nur selten ein Stadium der Autogamie angetroffen. Darum ist auch gar nicht zu erwarten, daß hier der Ablauf der Ereignisse lückenlos vor Augen tritt. Aus dem gleichen Grunde ist zu verstehen, warum in der Eizelle immer nur nebeneinanderliegende oder schon verschmolzene Kerne gefunden wurden. Auch in den Zellen des Antherentapetums traten am häufigsten diese Stadien auf. Dagegen wurden Mitosen viel seltener gesehen, offensichtlich deshalb, weil diese Vorgänge nur recht kurze Zeit beanspruchen. Da die Eizellen viel weniger Material zur Untersuchung abgaben, ist einzusehen, weshalb die Kernteilung selbst hier nicht verfolgt werden konnte.

Die Stadien, die bei der Autogamie in der Eizelle gefunden wurden, entsprechen genau denen, die bei der Kernverschmelzung im Antherentapetum auftreten. Daher darf man wohl annehmen, daß diejenigen Phasen, welche in der Eizelle nicht beobachtet werden konnten, genauso aussehen müssen wie jene, welche im Tapetum zu sehen sind.

Die Entstehung diploider Embryonen aus parthenogenetisch sich entwickelnden haploiden Eizellen erfolgt also durch eine Autogamie. Diese läuft so ab, daß sich der haploide Eikern ohne nachfolgende Zellteilung teilt und indem anschließend die beiden haploiden Tochterkerne wieder zu einem diploiden Fusionskern verschmelzen.

Ob ein bereits diploider Eikern seinen Chromosomensatz durch Autogamie noch einmal verdoppeln kann, so daß er dann tetraploid wird, ist nicht ganz sicher geklärt, aber doch sehr wahrscheinlich. Allerdings kann nur ein Präparat in dieser Richtung gedeutet werden. Hier liegen in der Eizelle zwei ungewöhnlich große Kerne nebeneinander, von denen der eine drei Nukleolen und der andere einen großen Nukleolus enthält (Abb. 10), der augenscheinlich aus kleineren Nukleolen durch Fusion entstanden ist. Drei Nukleolen wurden in haploiden Kernen nie gefunden. Daher kann man vermuten, daß die hier vorliegenden Kerne bereits durch eine Autogamie diploidisiert worden sind. Dieser diploide Fusionskern wäre nun seinerseits gerade im Begriffe, seine Chromosomenzahl noch einmal zu verdoppeln. Daher muß dieses Stadium später als eine normale Autogamie auftreten. Darauf deutet die hohe Endospermkernzahl von etwa 32, während in Normalfällen die Autogamie bei Vorliegen eines vier- bis achtkernigen Endospermes abläuft.

Auch im Antherentapetum konnten Kerne bei der Fusion beobachtet werden, die sich durch ihre Größe und manchmal durch ihre größere Zahl an Nukleolen auszeichneten. Wahrscheinlich wird auch hier der Chromosomensatz ein zweites Mal verdoppelt (Abb. 11 a bis e).

Gewöhnlich kann eine mit Pollenschlauchinhalt erfüllte Synergide dann nicht mehr platzen, wenn die parthenogenetische Entwicklung in der Eizelle begonnen hat. Aber auch von dieser Regel kommen Ausnahmen vor. So treten in sehr seltenen Fällen Synergiden auf, die auch beim Vorliegen zweier nebeneinanderliegender Kerne in der Eizelle ihren Inhalt in den Embryosack ergossen haben.

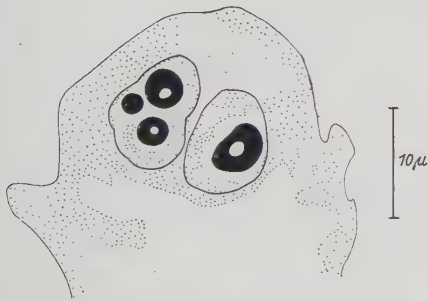


Abb. 10. Zwei vermutlich diploide Kerne in der Eizelle nebeneinander liegend

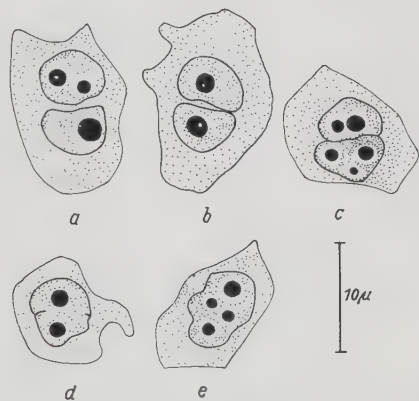


Abb. 11. Verschmelzung vermutlich tetraploider Kerne im Antherentapetum

Auf einigen wenigen Präparaten enthält nun bei geplatzter Synergide einer der beiden nebeneinanderliegenden Kerne in der Eizelle einen zusätzlichen Nukleolus in einer deutlich abgesetzten, chromatinreichen Beule (Abb. 12). Der eine haploide Kern ist also befruchtet worden. Wenn die beiden Kerne nun miteinander ver-

schmelzen, entsteht ein triploider Kern, was eine weitere Möglichkeit zur Ausbildung triploider Embryonen darstellt.

In seltenen Fällen ist die Diploidisierung bei parthenogenetischer Entwicklung des Embryos verzögert. Die Teilungsspindel des haploiden Eikernes ist dann nicht senkrecht, sondern parallel zur Längsachse der Eizelle orientiert. In solchen Fällen wird zwischen den beiden Kernen eine Trennwand ausgebildet,

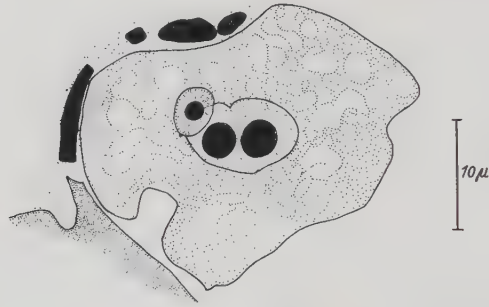


Abb. 12. Zusätzliche Befruchtung bei bereits begonnener Autogamie. Der männliche Teil des Fusionskernes von oben gesehen. Auf der Eizelle Reste des Synergideninhaltes

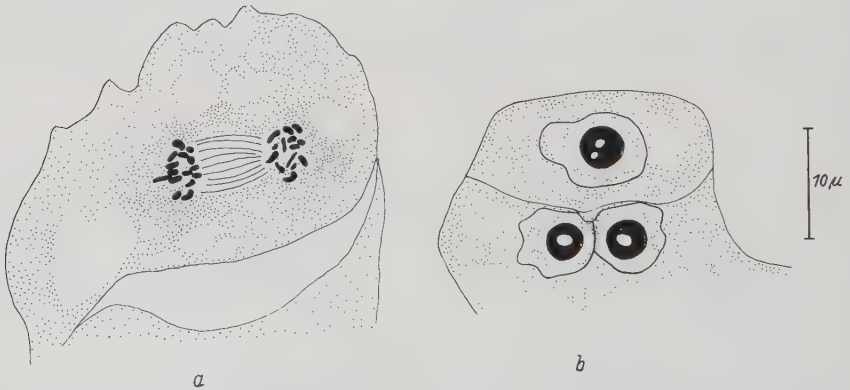


Abb. 13. Autogamie in der Basalzelle eines zweizelligen Proembryos. a) Mitose des haploiden Kernes. Die Apikalzelle befindet sich auf dem folgenden Schnitt. b) Nebeneinanderliegende Tochterkerne

und es entsteht somit ein zweizelliger, haploider Proembryo. Ob sich daraus haploide Embryonen entwickeln, ist nicht bekannt. Normalerweise wird der Chromosomensatz der Kerne früher oder später aufreguliert. Diese Aufregulierung erfolgt genauso wie in der Eizelle, was besonders gut in den Basalzellen der Proembryonen verfolgt werden konnte. Hier teilen sich nämlich bei der normalen Embryoentwicklung die Kerne stets so, daß ihre Spindeln parallel zur Längsachse des Proembryos orientiert sind. Wird nun die Chromosomenzahl in dem Kern aufreguliert, teilt er sich senkrecht zur Längsachse. Die Anaphase

einer solchen Teilung konnte einmal direkt beobachtet werden (Abb. 13a). Die Spindel war senkrecht zur Längsachse des Proembryos orientiert, und die Anzahl der Chromosomen betrug je etwa 14, was dem haploiden Satz entspricht. Einer solchen Kernteilung folgt wiederum keine Zellteilung. Die beiden Tochterkerne legen sich vielmehr nebeneinander und sind so reich an Chromatin, daß man ihre trennenden Kernmembranen nur bei sehr sorgfältiger Untersuchung auffinden kann (Abb. 13b).

In der Terminalzelle des Proembryos konnte die Aufregulierung nicht so sicher verfolgt werden. In dem hier vorhandenen dichten Cytoplasma war nämlich nie sicher zu entscheiden, ob zwischen zwei Kernen eine Zellwand vorhanden war oder nicht.

Die Autogamie läuft in den beiden Zellen des Proembryos nicht synchron ab. Vielmehr können in der einen Zelle die zwei gleichgroßen Kerne auftreten, während in der anderen nur ein einziger vorhanden ist.

Man kann nun annehmen, daß die Verdoppelung der Chromosomenzahl in einer Zelle des Proembryos überhaupt unterbleibt. Somit wäre die Möglichkeit zur Entstehung von Chimären gegeben. Solche konnten auch tatsächlich in ganz wenigen Fällen aufgefunden werden. Zwar war eine direkte Zählung der Chromosomen zweier Metaphasenplatten im gleichen Embryo niemals möglich, aber vereinzelt traten Embryonen auf, deren Kerne deutlich verschieden groß waren. Diese unterschiedliche Kerngröße kann auch nicht durch einen auf Grund des Mitosezyklus bedingten Wechsel im Kernvolumen hervorgerufen worden sein, denn einmal war es möglich, Kerne miteinander zu vergleichen, die sich beide auf dem Stadium einer frühen Prophase befanden und trotzdem verschieden groß waren (Abb. 14a). Da sie beide noch dazu im vorderen Teil des Embryos lagen, scheidet auch ein Größenunterschied wegen unterschiedlicher räumlicher Verteilung aus. Manchmal können nämlich die im Suspensor gelegenen Kerne etwas größer als die im apikalen Embryoteil befindlichen sein.

Die Zellen, welche die kleineren, höchstwahrscheinlich haploiden Kerne beinhalten, sind manchmal ebenfalls deutlich kleiner. Außerdem sind sie wesentlich stärker von Vakuolen durchsetzt, weswegen sie einen viel plasmaärmeren Eindruck machen (Abb. 14a). Wie klein die Zellen, welche haploide Kerne enthalten, im Vergleich zu den normal diploiden unter Umständen sein können, zeigt die Gegenüberstellung der Basalzellen zweier Proembryonen, von denen die eine einen diploiden (Abb. 14b) und die andere einen haploiden Kern (Abb. 14c) besitzt.

Derartige Chimären traten am häufigsten in wenigzelligen Proembryonen auf. Zu Beginn des „Köpfchenstadiums“ wurden sie nur in einem Fall sicher nachgewiesen. In jeder beobachteten Chimäre lagen die Zellen mit den größeren und den kleineren Kernen in solchen Gruppen zusammen, daß man sie jeweils auf eine Mutterzelle zurückführen konnte (Abb. 14a und c). So hatten einmal in einem fünfzelligen Proembryo die beiden obersten Zellen große und die drei restlichen Zellen kleinere Kerne (Abb. 14c).

Auf späten Entwicklungsstadien des Embryos konnten Chimären nicht mehr sicher nachgewiesen werden. Zwar treten dann wegen der großen Zellenzahl

gehäuft Mitosen auf, aber eine auch nur einigermaßen exakte Bestimmung der Chromosomenzahl ist zu diesem Zeitpunkt nur noch sehr schwer möglich. Je älter nämlich der Embryo wird, um so kleiner sind die Chromosomen, welche bei der Mitose auftreten, was eine Zählung oft unmöglich macht. Nach TISCHLER (1951, S. 71 f.) scheint diese Größenabnahme der Chromosomen bei der Embryoentwicklung vieler Pflanzen aufzutreten, und sie ist verbunden mit einer Verringerung des Kern- und Zellvolumens.

Weil bei parthenogenetischer Entwicklung der Eizelle die Spermazellen im allgemeinen nicht aus der Synergide entlassen werden, muß sich das Endosperm in solchen Fällen ohne Befruchtung entwickeln. Tatsächlich konnte auch einmal

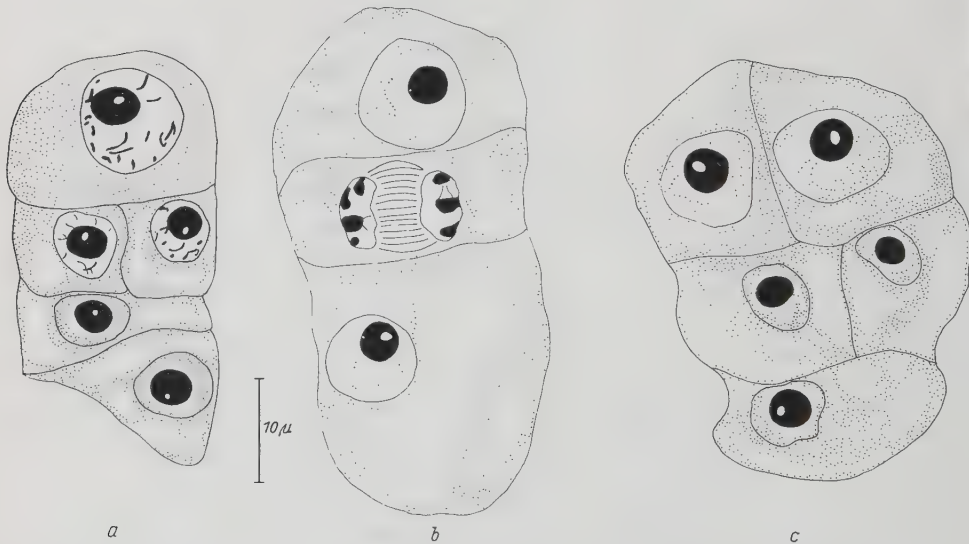


Abb. 14. a) Chimäre: Kern der obersten Zelle diploid, die restlichen Kerne haploid. b) Embryo mit diploidem Kern in der Basalzelle. c) Embryo mit haploidem Kern in der Basalzelle

eine Metaphasenplatte einer Endospermkernteilung aufgefunden werden, die eine diploide Chromosomenzahl aufwies. Dagegen ist für die normale Endospermentwicklung stets eine Verschmelzung der beiden Polkerne erforderlich, denn es konnte nie ein haploider Chromosomensatz bei einer Mitose im Endosperm festgestellt werden. Außerdem waren keinerlei Anzeichen für das Auseinanderweichen bereits gepaarter Polkerne zu beobachten.

Besonders auf späteren Stadien der Endospermentwicklung kommt es aber vor, daß einige Kerne miteinander verschmelzen. Darum kann die Kernzahl im Endosperm zu diesem Zeitpunkt für sich allein nicht als Maßstab für den relativen Entwicklungsstand in der Samenanlage verwendet werden.

Diskussion

Die Fortpflanzungsverhältnisse haben sich bei *Rubus caesius* als außerordentlich plastisch erwiesen. Sowohl geschlechtliche als auch ungeschlechtliche Fortpflanzung kommen jeweils mit mehreren Varianten nebeneinander vor. Neben der normalen geschlechtlichen Fortpflanzung mit Verschmelzung von Ei- und Spermakern und Entstehung eines diploiden Embryos (Abb. 15a) findet auch Dispermie durch Befruchtung des Eikernes mit zwei Spermakernen statt. Die beiden Spermakerne können dabei demselben Pollenschlauch (Abb. 15b) oder zwei verschiedenen Pollenschläuchen entstammen (Abb. 15c), wenn – wie es gelegentlich geschieht – in beide Synergiden je ein Pollenschlauch eindringt und beide Synergiden ihren Inhalt in den Embryosack ergießen.

Voraussetzung zur parthenogenetischen Entwicklung ist anscheinend immer das Eindringen eines Pollenschlauches in eine Synergide, deren Inhalt sich aber nicht in den Embryosack ergießt. In diesem Falle wird der Eikern ebenfalls zur Entwicklung angeregt, die sich aber grundsätzlich von der normalen Embryoentwicklung unterscheidet: Die erste Mitose erfolgt nicht in Richtung der Polaritätsachse der Eizelle, sondern senkrecht dazu. Sie wird nicht von einer Zellteilung gefolgt, sondern die beiden haploiden Tochterkerne verschmelzen anschließend zu einem diploiden Kern. Erst von der auf diese Weise ohne Befruchtung diploidisierten Eizelle nimmt die normale Embryoentwicklung ihren Ausgang, indem die anschließende Mitose in gewohnter Weise in Richtung der Polaritätsachse erfolgt (Abb. 15f). Doch scheint in seltenen Ausnahmefällen dieser zweite Schritt noch bis zur nächsten Mitose hinausgeschoben werden zu können: Die auf den haploiden Eizellkern wirkende Entwicklungsanregung mit um 90° gedrehter Spindel bei der Mitose wirkt auch auf den bereits diploidisierten Eizellkern mit dem Ergebnis, daß ein autogamer tetraploider Kern entsteht, der zu einem tetraploiden Embryo führt (Abb. 15e).

Umgekehrt kann aber auch zunächst die Embryoentwicklung mit dem haploiden Eikern anlaufen unter Bildung eines zweizelligen haploiden Proembryos und erst dann die gleichzeitige oder teilweise Diploidisierung der haploiden Kerne erfolgen. Dabei entstehen diploide Embryonen (Abb. 15g) oder Haploid-Diploid-Chimären (Abb. 15h).

Platzte schließlich nach vorausgegangener parthenogenetischer Entwicklungsanregung und Diploidisierung des haploiden Eikernes die Synergide doch noch, so kann es zu einer nachträglichen Befruchtung des diploidisierten Eikernes und zur Bildung eines triploiden Embryos kommen (Abb. 15d), also einer Kombination von parthenogenetischer und sexueller Fortpflanzung.

Die ungeschlechtliche Fortpflanzung bei *Rubus caesius* ist also eine gamophasige Parthenogenese im Sinne WINKLERS (1934). Die Verdopplung der haploiden Chromosomenzahl erfolgt in der Eizelle durch Autogamie. Die Kernteilung, welche zur Bildung der beiden haploiden Kerne in der Eizelle führt, konnte zwar nicht sicher beobachtet werden. Es besteht aber gar kein Zweifel, daß eine derartige Mitose auftritt. Eine solche konnte ja bei der Autogamie in der Basalzelle eines Proembryos direkt festgestellt werden. Außerdem ist

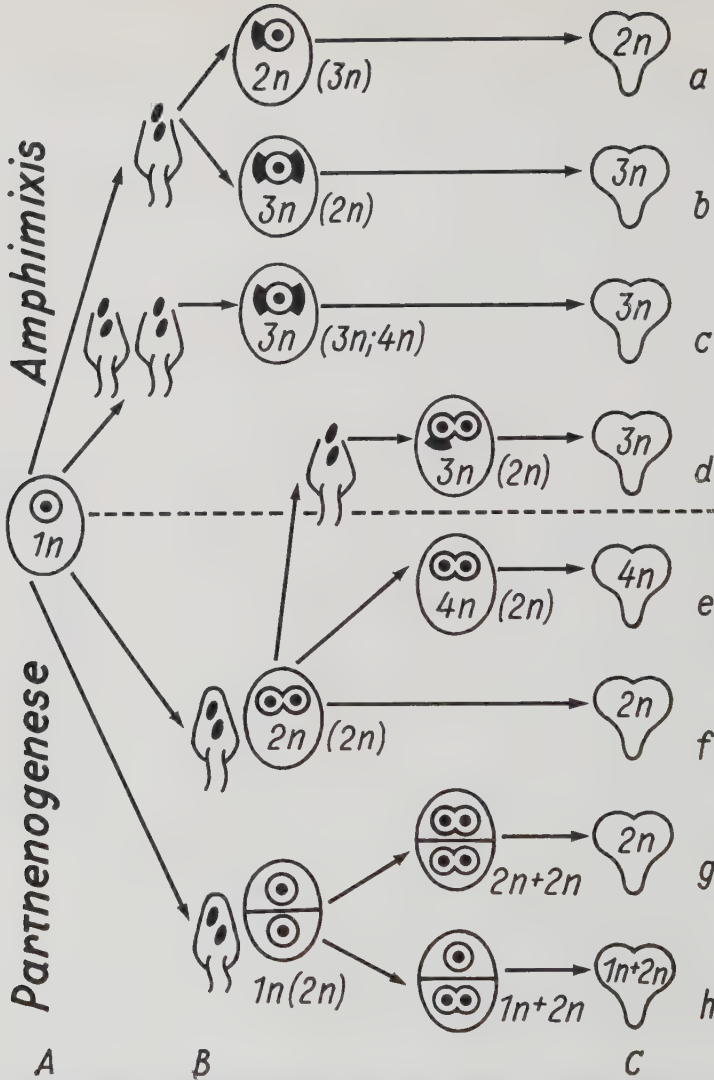


Abb. 15. Schema der Entwicklungsmöglichkeiten der Eizelle von *Rubus caesius*. A. Eizelle. B. geplatzte und ungeplatzte Synergiden, in die ein Pollenschlauch eingedrungen ist, C. Embryonen

Zahlen ohne Klammern geben den Chromosomensatz in Eizelle, Proembryo bzw. Embryo an, Zahlen in Klammern den Chromosomensatz im Endosperm. Weitere Erklärungen im Text

schwer vorstellbar, auf welchem anderen Wege zwei derartig normal ausgebildete Kerne entstehen können. Daß es wirklich zwei getrennte Kerne sind, die in der Eizelle nebeneinanderliegen, konnte mit absoluter Sicherheit beobachtet werden. Es handelt sich dabei also nicht um einen einzigen, hantelförmigen

Kern mit zwei Nukleolen, denn zwischen beiden Kernen konnte man wenigstens in einigen Fällen die trennenden Kernmembranen sehr deutlich wahrnehmen. Wenn aber auch der Nachweis dieser Mitose nicht vollständig geführt werden konnte, so ist ihre Existenz um so weniger zweifelhaft, als es sich dabei nicht um eine grundsätzliche Neuerwerbung, sondern lediglich um die Übernahme eines Mechanismus handelt, der bereits an anderer Stelle in den normalen Entwicklungsgang eingebaut ist, nämlich der Verdopplung der Chromosomenzahl im Antherentapetum.

In der Literatur wurde bereits mehrfach vermutet, daß eine Autogamie in der Eizelle für die Diploidisierung des haploiden Eikernes im Falle von gamophasiger Parthenogenese sorgt (z. B. DOWRICK, 1961). Während aber diese Ansicht bei niederen Pflanzen durch eine ganze Reihe histologischer Belege bestätigt worden ist (Übersicht bei SCHUSSNIG, 1960), fehlten bis jetzt derartige Nachweise für Angiospermen vollständig. Somit ist *Rubus caesius* das erste Objekt der Angiospermen, bei dem Autogamie direkt im mikroskopischen Bild nachgewiesen werden konnte. Ebenso wurde bereits auf Grund von Kreuzungsexperimenten vermutet, daß ein Eikern, der durch Autogamie diploidisiert worden war, zusätzlich noch befruchtet werden kann. Auch hierfür gab es für die Angiospermen noch keinen histologischen Beweis. Dieser konnte nunmehr bei *Rubus caesius* das erste Mal erbracht werden.

Die Eizellen lassen durch kein Merkmal erkennen, ob sie sich parthenogenetisch oder amphimiktisch weiterentwickeln werden. Vor dem sicheren Nachweis des Gegenteils wird man daher annehmen dürfen, daß sich eine Eizelle in jeder Richtung entwickeln kann und beide Wege zunächst gleich wahrscheinlich sind.

Verschiedentlich wurde behauptet, daß die zur parthenogenetischen Entwicklung befähigten Eikerne reicher an DNS seien als solche, die zu ihrer Weiterentwicklung erst einer Befruchtung bedürfen (ROWLANDS, 1954). Andere Autoren widersprechen dieser Ansicht (z. B. PODOUBNAJA-ARNOLDI, 1964, S. 356), und auch bei *Rubus caesius* wurden immer nur feulgennegativ reagierende Eikerne gefunden. Sogar die beiden haploiden Kerne, die vor der Autogamie in der Eizelle vorliegen, reagieren anukleal.

Dagegen scheint ein enger Zusammenhang zwischen dem Verhalten der Synergiden und der Entwicklung in der Eizelle zu bestehen. Eine parthenogenetische Entwicklung erfolgt nämlich ausnahmslos dann, wenn die Synergide, in die ein Pollenschlauch eingedrungen ist, nicht platzt. Es ist weiter bemerkenswert, daß in diesem Falle nicht nur die Eizelle, sondern auch der sekundäre Embryosackkern zur Teilung angeregt wird, denn immer, wenn in der Eizelle zwei haploide, nebeneinanderliegende Kerne vorhanden sind, ist auch schon ein Endosperm vorhanden.

Auf die Wechselwirkungen zwischen Synergiden und Eizelle weist dann auch die Beobachtung hin, daß nicht allzu selten auch in die zweite Synergide ein zweiter Pollenschlauch eindringen kann. Diese zweite Synergide platzt in der Regel aber nicht mehr, wenn die Eizelle bereits durch einen Spermakern des ersten Pollenschlauches befruchtet worden ist.

In welchem zahlenmäßigen Verhältnis Befruchtung und Autogamie zueinander stehen, konnte mit der histologischen Methode nicht festgestellt werden. Einmal ist es nicht immer möglich, einen autogam entstandenen Fusionskern von einem Zygotenkern exakt zu unterscheiden. Weiterhin kann auch bei schon vorhandenem Endosperm noch eine Synergide platzen und Spermazellen in den Embryosack entlassen. Darum ist nie sicher, ob ein offensichtlich unbefruchteter Eikern bei Vorliegen eines mehrkernigen Endospermes und einer ungeplatzen, mit Pollenschlauchinhalt erfüllten Synergide sich immer autogam weiterentwickeln muß. Es wäre durchaus denkbar, daß die Synergide doch platzt und es somit zu einer Befruchtung des Eikernes käme.

Im Vergleich zu den Befruchtungsstadien wurden die einzelnen Phasen der Autogamie 5 bis 9mal seltener gefunden. Daraus ist aber nicht zu schließen, daß das Verhältnis der Häufigkeit des Auftretens von Amphimixis zur Automixis 5 – 9:1 betragen soll. Die Kernfusion in der Eizelle scheint nämlich sehr langsam abzulaufen, während die Autogamie offensichtlich ein sich rasch abwickelnder Vorgang ist. Dieser muß darum notwendigerweise seltener als die Befruchtung gefunden werden. Das oben genannte Verhältnis verschiebt sich deshalb zugunsten der Parthenogenese. Trotzdem scheint in jedem Falle Amphimixis häufiger als Automixis vorzukommen.

Aus dem soeben Gesagten wird ersichtlich, daß ein genaues zahlenmäßiges Verhältnis von geschlechtlicher und ungeschlechtlicher Fortpflanzung nur auf Grund von genetischen Experimenten ermittelt werden kann.

Wegen der Unsicherheiten bei der Ermittlung von Zahlenverhältnissen kann auch nicht sicher festgestellt werden, ob Außeneinflüsse, wie Standort, Jahreszeit und Witterung das Auftreten einer der beiden Möglichkeiten begünstigen. In jedem Falle kamen aber Befruchtung und Autogamie immer nebeneinander vor. Stadien der Befruchtung und der Autogamie konnten manchmal sogar in den Fruchtknoten der gleichen Blüte nebeneinander gefunden werden. Somit sind die beiden Entwicklungsrichtungen nicht auf getrennte Pflanzen beschränkt.

Wenn auch die Vorgänge bei der Kernverschmelzung im Antherentapetum weitgehend mit denen in der Eizelle übereinstimmen, so trat doch auch ein deutlicher Unterschied auf. In den Zellen des Antherentapetums ist nämlich die Richtung der Kernteilung in keiner äußerlich sichtbaren Weise festgelegt. Sie ist somit keiner besonderen Polarität unterworfen. Dagegen tritt eine solche streng festgelegte Polarität bei jener Kernteilung in der Eizelle auf, die zur Bildung der beiden nebeneinanderliegenden Tochterkerne führt. Aus der Lage der zwei Kerne kann man nämlich schließen, daß die Teilungsspindel stets mehr oder weniger senkrecht zur Längsachse der Eizelle orientiert sein muß. Dabei würden die räumlichen Verhältnisse in der Eizelle durchaus eine um 90° gedrehte Teilungsrichtung gestatten, so daß die Tochterkerne übereinander anstatt nebeneinander zu liegen kämen, wie es ja der Normalentwicklung des Proembryos entspricht und wie auch das sehr seltene Zwischenstadium eines zweizelligen, haploiden Proembryos beweist, dessen Diploidisierung erst nach dieser Teilung erfolgt.

Diese Beobachtungen deuten alle auf die Längspolarität hin, die man ganz allgemein in den Eizellen der Angiospermen vorfindet. Die Errichtung einer Längspolarität ist ja bei den höheren Pflanzen das zuerst sichtbare Zeichen der Embryogenese (WARDLAW, 1955, S. 13) und eine unbedingt notwendige Voraussetzung für die Differenzierung der pflanzlichen Gewebe (BÜNNING, 1957, S. 66). Eine solche Längspolarität kann manchmal schon in der Embryosackmutterzelle vorhanden sein, wie RENNER (1940) an manchen Oenotheren feststellen konnte.

Eine Voraussetzung zur Autogamie scheint nun darin zu bestehen, daß die beiden haploiden Tochterkerne nicht in den Polaritätsgradienten gelangen, sondern in „gleichwertiges“ Cytoplasma zu liegen kommen, wo sie dann ebenfalls gleichwertig bleiben. Welche inneren Zusammenhänge zwischen dem Nichtplatzen der Synergide, der Entwicklungsanregung von Eizelle und Endospermkern und „äqualer“ Teilung des Eikernes mit ausbleibender Zellwandbildung und Wiederverschmelzung der Tochterkerne auf der einen Seite, dem Platzen der Synergide und normaler Befruchtung sowie „inäqualer“ Teilung des Eikernes mit anschließender Zellwandbildung besteht, muß völlig offen bleiben.

Zusammenfassung

Rubus caesius kann sich sexuell oder parthenogenetisch fortpflanzen. Bei der sexuellen Fortpflanzung kommt neben normaler Befruchtung auch Dispermie vor. In diesem Fall können die beiden mit einem Eikern fusionierenden Kerne der Spermazellen dem gleichen oder zwei verschiedenen Pollenschläuchen entstammen.

Die Parthenogenese ist gamophasig und die Verdoppelung der Chromosomenzahl erfolgt durch eine Verschmelzung zweier Kerne, die durch Teilung des Eikernes ohne nachfolgende Zellteilung entstanden sind, also durch Autogamie. Für den Beginn dieser Entwicklung ist stets das Eindringen eines Pollenschlauches in eine Synergide notwendig, die aber gewöhnlich nicht platzt. Geschieht dies in Ausnahmefällen aber doch einmal, erfolgt zusätzlich Befruchtung nach bereits begonnener Autogamie. Außerdem kann ein durch Autogamie bereits diploidisierter Eikern höchstwahrscheinlich seinen Chromosomensatz durch eine weitere Autogamie noch einmal verdoppeln. Andererseits vermag eine haploide Eizelle auch einen haploiden Proembryo auszubilden, in dessen Zellen sich dann die Kerne einzeln durch Autogamie aufregulieren können. Unterbleibt dieser Vorgang in einer Zelle, so entsteht eine Haploid-Diploid-Chimäre.

Die die Autogamie vorbereitende Teilung des haploiden Eikernes ist immer so gerichtet, daß die beiden Tochterkerne, welche später miteinander verschmelzen, nicht in den Polaritätsgradienten der Eizelle zu liegen kommen.

Aus welchem Grund sich die Eizelle einmal parthenogenetisch und das andere Mal sexuell entwickelt, ist nicht bekannt. Jedoch ist ein Einfluß der Synergiden denkbar.

Ein genaues zahlenmäßiges Verhältnis zwischen den beiden hauptsächlichen Entwicklungsrichtungen konnte nicht aufgestellt werden. Es hat aber den Anschein, als ob die sexuelle Fortpflanzung in jedem Falle häufiger auftritt.

Summary

Rubus caesius produces embryos either sexually or parthenogenetically. Initially normal reduced egg cells are present in both procedures. In sexual reproduction there is not only the possibility of normal fertilization but also that of fusion of one egg nucleus with two sperm nuclei, which may originate from the same pollen tube or from two different ones.

In the case of parthenogenetic development, chromosome-doubling in the haploid egg cell takes place by fusion of two haploid nuclei, which are produced by the division of a haploid egg nucleus. This autogamy begins only after the pollen tube has entered a synergid. Usually, the synergid does not discharge its contents into the embryo sac. But this event, if it does take place, may cause additional fertilization, even after the beginning of the autogamic process. Furthermore, an egg nucleus, having doubled its chromosome number by autogamy, seems to be able to repeat this procedure once over.

On the other hand, a haploid egg cell is capable of developing into a haploid proembryo. The nuclei would then double their chromosomes by autogamy in the cells of that proembryo. If one of the cells fails to do this, the result is a haploid-diploid chimera.

The division of the egg nucleus, preparing autogamy, is orientated in such a way that the two daughter nuclei are not placed in the gradient of polarity in the egg plasm.

It is not known why embryogenesis proceeds sometimes sexually and sometimes parthenogenetically, but there may be some influence of the synergids.

A definite ratio between the two main possibilities of embryo development could not be arrived at, but sexual reproduction seems to occur more often.

Schriftenverzeichnis

- ADE, A., 1957, Die Gattung *Rubus* in Südwest-Deutschland. Schriftenreihe Naturschutzstelle Darmstadt, Beih., H. 7.
- BÜNNING, E., 1957, Polarität und inäquale Teilung des pflanzlichen Protoplasten. Protoplasmatologia, VIII, 9a. Springer-Verlag, Wien.
- CHRISTEN, H. R., 1950, Untersuchungen über die Embryologie pseudogamer und sexueller *Rubus*-arten. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 60: 153–198.
- CONN, H. J., M. A. DARROW and V. M. EMMEL, 1960, Staining Procedures. Williams & Wilkins, Baltimore.
- COOPER, D. C., 1949, Flower and seed development in *Oxybaphus nyctagineus*. Am. Jour. Bot. 36: 348–355.
- DARLINGTON, C. D., and L. F. LA COUR, 1963, Methoden der Chromosomenuntersuchung. Franckh, Stuttgart.

- DOWRICK, G.J., 1961, Biology of reproduction in *Rubus*. Nature 191: 680–682.
- FINN, W.W., 1928, Spermazellen bei *Vinca minor* und *V. herbacea*. Ber. Dt. Bot. Ges. 46: 235 bis 246.
- FUCHS, A., 1936, Untersuchungen über den männlichen Gametophyten von *Elaeagnus angustifolius*. Österr. Bot. Ztschr. 85: 1–16.
- , 1938, Beiträge zur Embryologie der *Thymelaeaceae*. Österr. Bot. Ztschr. 87: 1–41.
- GERASSIMOVA, H., 1933, Fertilization in *Crepis capillaris* (L.) Wall. La Cellule 42: 103–148.
- GUSTAFSSON, Å., 1942, The origin and properties of European blackberry flora. Hereditas 28: 249–277.
- HAGEMANN, R., 1964, Plasmatische Vererbung. Fischer Verlag, Jena.
- HOARE, G.V., 1934, Gametogenesis and fertilization in *Scilla nonscripta*. La Cellule 42: 269–289.
- ISHIKAWA, M., 1918, Studies on the embryosack and fertilization in *Oenothera*. Ann. Bot. 32: 279–317.
- JENSEN, W.A., 1964, Observations on the fusion of nuclei in plants. Jour. Cell Biol. 23: 669–672.
- JOHANSEN, D.A., 1940, Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York and London.
- KÜSTER, E., 1951, Die Pflanzenzelle. Fischer Verlag, Jena.
- LIDFORSS, B., 1914, Resumé seiner Arbeiten über *Rubus*. Ztschr. Vererb. 12: 1–13.
- MAHESHWARI, P., 1950, An introduction to the embryology of Angiosperms. McGraw-Hill, New York–Toronto–London.
- MODILEVSKY, J.S., 1963, Cytoembryologie der höheren Pflanzen (russ.). Ukrain. Akad. Wiss., Kiew.
- PODDUBNAJA-ARNOLDI, V.A., 1964, Allgemeine Embryologie der bedecktsamigen Pflanzen (russ.). Nauka, Moskau.
- RAICU, P., et J. POPOVICI, 1964, Contribution à l'étude de la fécondation polyspermiq ue chez *Zea mays* L. In: Pollen Physiology and Fertilization, 208–214. North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- RENNER, O., 1940, Kurze Mitteilungen über Oenotheren. IV. Über die Beziehungen zwischen Heterogamie und Embryosackentwicklung und über diplarrhene Verbindungen. Flora 134: 145–158.
- RICHTER-LANDMANN, W., 1959, Der Befruchtungsvorgang bei *Impatiens glanduligera* Royle unter Berücksichtigung der plasmatischen Organelle von Spermazelle, Eizelle und Zygote. Planta (Berl.) 53: 162–177.
- ROWLANDS, D.G., 1954, Control of mitotic activity. Nature 173: 828–829.
- SCHNARF, K., 1929, Embryologie der Angiospermen. Bornträger, Berlin.
- SCHUSSNIG, B., 1960, Handbuch der Protophytenkunde, Bd. 2. Fischer Verlag, Jena.
- STEFFEN, K., 1951, Zur Kenntnis des Befruchtungsvorganges bei *Impatiens glanduligera*. Lindl. Planta (Berl.) 39: 175–244.
- STRASBURGER, E. und M. KOERNICKE, 1923, Das Botanische Praktikum. Fischer, Jena.
- TISCHLER, G., 1934, Allgemeine Pflanzenkaryologie. I. Der Ruhekern. Bornträger, Berlin.
- , 1951, Allgemeine Pflanzenkaryologie. II. Kernteilung und Kernverschmelzung. Bornträger, Berlin.
- VAZART, B., 1958, Differenciation des cellules sexuelles et fécondation chez les Phanérogames. Protoplasmatologia, VII, 3a. Springer-Verlag, Wien.
- WARDLAW, C.W., 1955, Embryogenesis in plants. Methuen, London.
- WINKLER, H., 1934, Apomixis. In: Handwörterbuch der Naturwissenschaften Bd. 4, 451–461. Fischer, Jena.
- WYLIE, R.B., 1941, Some aspects of fertilization in *Vallisneria*. Am. Jour. Bot. 28: 169–174.
- ZACH, O., 1954, Anatomie der Blütenpflanzen. Franckh, Stuttgart.

Anschrift des Verfassers: Dr. DIETER GERLACH, Botanisches Institut der Universität
Erlangen–Nürnberg, 852 Erlangen, Schloßgarten 4.

LEBENS LAUF

Am 19. 9. 1939 wurde ich, Dieter Gerlach, als Sohn des Ingenieurs Dr. Martin Gerlach und der Margarete Gerlach, geb. Andert in Magdeburg geboren. Von 1945 bis 1952 besuchte ich die Volksschule nacheinander in Ebersbach (Kreis Löbau, Sachsen), Zittau (Sachsen) und Bad Klosterlausnitz (Kreis Stadtroda, Thüringen). Im Jahre 1952 trat ich in Schwabach in die damalige „Oberschule in Kurzform“ — das heutige „Deutsche Gymnasium“ — ein. An dieser Schule legte ich im Sommer 1959 die Reifeprüfung ab. Seit dem Wintersemester 1959/60 bin ich an der Universität Erlangen-Nürnberg immatrikuliert.

